Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Vol. 18, No. 1, Apr. May. 2022, p. 140- 150

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۱ ص.۱۵۰-۱۴۰

Homepage: http://ifstrj.um.ac.ir

Full Research Paper

Comparison of the performance of ascorbic acid and α-tocopherol in combination with whey protein to increase the oxidative stability of Vanami shrimp fillet (*Litopenaeus vannamei*)

Soheyl Reyhani Poul[1], Sakineh Yeganeh[2*]

Received: 2021.01.02
Accepted: 2021.03.13

How to cite this article:
Reyhani Poul, S., Yeganeh, S., (2022). Comparison of the performance of ascorbic acid and α-tocopherol in combination with whey protein to increase the oxidative stability of Vanami shrimp fillet (*Litopenaeus vannamei*). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. *18*(1), 140-150.

Abstract

Introduction: Shrimps are highly sensitive to oxidation at refrigerator temperature. On the other hand, storage of shrimp in freezing conditions leads to a decrease in product quality after thawing. It should be noted that shrimp oxidation also occurs in freezing conditions, but the oxidation rate in these conditions is much slower than storage in refrigerated conditions. Therefore, it seems necessary to use a method that can control the oxidation of shrimp in both freezing and refrigerating conditions. The aim of this study was to evaluate the feasibility of controlling shrimp oxidation (at refrigerator temperature) using whey protein coating containing ascorbic acid or α-tocopherol, and to compare the efficacy of these antioxidants (in combination with whey protein).

Materials and Methods: In order to advance the purpose of the research, shrimp fillets were stored in four treatments, including treatments No. 1 (control), 2 (shrimp fillet coated by whey protein), 3 (shrimp fillet coated by whey protein + ascorbic acid) and 4 (shrimp fillet coated by whey protein+ α-tocopherol) at refrigerator temperature for 9 days . In order to evaluate the oxidation intensity and also the stability of the treatments against oxidative damage, peroxide indices, free fatty acids, anisidine and thiobarbituric acid of the treatments were determined on days 0, 3, 6 and 9. This study was implemented in form of completely randomized design and data were analyzed by one-way ANOVA. Significant differences among means were tested by Duncan's test at 95 confidence level.

Results and Discussion: The results showed that whey protein alone (treatment 2) as shrimp coating can partially control the oxidation process of fillet fats compared to control. But when whey protein was combined with ascorbic acid (treatment 3) and α-tocopherol (treatment 4), the coatings' strength against oxidative deterioration significantly increased ($p<0.05$). According to our findings, during the storage period, the lowest amount of peroxide, free fatty acids, anisidine and thiobarbituric acid indices were related to treatment 3 ($p<0.05$). During the storage period, all the mentioned indicators (in all treatments) had an increasing trend, but the slope of this trend was different and the lowest slope was related to treatment 3. Comparison of fresh shrimp fillet fatty acid profile with fatty acid profile of treatments at day 9 showed that the whey protein coating combined with ascorbic acid (treatment 3) had the most protective effect on the structure of fatty acids. Overall, according to the results of the present study, it can be claimed that whey protein- ascorbic acid coating is more effective than whey protein-α-tocopherol coating to increase the oxidative stability of shrimp fillet. Therefore, the ascorbic acid is more efficacious than α -tocopherol (in combination with whey protein) in controlling the oxidation of shrimp fillets.

Keywords: Shrimp, Whey protein, Ascorbic acid, α-tocopherol.

1. Ph.D. Student, Department of Processing of Fishery Products, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 09113964324, P. O. Box :46511-66289.
2. Professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, 01133687574, P. O. Box: 4818166996.
(* Corresponding Author's Email: skyeganeh@gmail.com)
DOI:10.22067/IFSTRJ.2021.67977.1003

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 1, Apr. May. 2022, p. 140-150

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۱ ص.۱۵۰-۱۴۰

مقاله علمی-پژوهشی

مقایسه کارایی آسکوربیک‌اسید و آلفاتوکوفرول در ترکیب با پروتئین آب پنیر جهت افزایش پایداری اکسایشی میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*)

سهیل ریحانی پول[1]- سکینه یگانه[2]*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۳

چکیده

هدف از مطالعه حاضر مقایسه کارایی آسکوربیک اسید و آلفاتوکوفرول در ترکیب با پروتئین آب‌پنیر جهت افزایش پایداری اکسایشی میگوی ذخیره شده در دمای یخچال است. به همین منظور نمونه‌های بافت میگو در قالب چهار تیمار شامل تیمار ۱ (شاهد)، ۲ (بافت میگو با پوشش پروتئین آب‌پنیر)، ۳ (بافت میگو با پوشش پروتئین آب‌پنیر و آسکوربیک اسید) و ۴ (بافت میگو با پوشش پروتئین آب‌پنیر و آلفاتوکوفرول) در دمای یخچال به مدت ۹ روز ذخیره شدند. به‌منظور بررسی شدت اکسایش و همچنین پایداری تیمارها در برابر فساد اکسیداتو، شاخص‌های پراکسید، اسیدهای چرب آزاد، آنیسیدین و تیوباربیتوریک اسید تیمارها در روزهای صفر، ۳، ۶ و ۹ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد پروتئین آب‌پنیر به تنهایی (تیمار ۲) به‌عنوان پوشش میگو می‌تواند تا حدی روند اکسیداسیون چربی‌های میگو را نسبت به شاهد کنترل کند. اما وقتی پروتئین آب‌پنیر با آسکوربیک اسید (تیمار ۳) و آلفاتوکوفرول (تیمار ۴) غنی شد، قدرت پوشش‌ها در برابر فساد اکسیداتیو به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p<0.05$). مطابق یافته‌ها، در طول دوره نگهداری کمترین میزان عدد پراکسید، اسیدهای چرب آزاد، اندیس آنیسیدین و تیوباربیتوریک اسید مربوط به تیمار ۳ بود ($p<0.05$). مقایسه پروفیل اسیدهای چرب میگوی تازه و پروفیل اسیدهای چرب تیمارها در روز نهم نشان داد که پوشش پروتئین آب‌پنیر حاوی آسکوربیک اسید (تیمار ۳) بیشترین نقش حفاظتی را از ساختار اسیدهای چرب داشته است. بنابر نتایج تحقیق حاضر می‌توان ادعا کرد که پوشش پروتئین آب‌پنیر- آسکوربیک اسید نسبت به پوشش پروتئین آب‌پنیر- آلفاتوکوفرول از کارائی بیشتری جهت افزایش پایداری اکسایشی میگو برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: میگو، پروتئین آب پنیر، آسکوربیک‌اسید، آلفاتوکوفرول

مقدمه

یکی از راه‌های افزایش ماندگاری و مقاومت مواد غذایی در برابر فساد اکسیداتیو و میکروبی، استفاده از پوشش‌های خوراکی در قالب فیلم است. این پوشش‌ها که در دو نوع شیمیایی و طبیعی برای نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، غالبا از جنس پروتئین، پلی‌ساکارید و لیپید هستند. یکی از پوشش‌های پروتئینی، پروتئین آب‌پنیر می‌باشد که طی دهه اخیر به دلیل خواص تغذیه‌ای (ضریب هضم بالا، داشتن آمینواسیدهای سیستئین و سیستین که پیش‌ساز گلوتانیون هستند) و نگهدارندگی (ممانعت از اکسیداسیون و فعالیت آنزیم‌ها، حفظ خصوصیات کیفی فرآورده مانند عطر، طعم، رنگ و مزه، حفظ ویتامین‌ها و آمینواسیدهای ضروری در محصول) در صنایع غذایی مورد توجه قرار گرفته است (Gounga *et al*., ؛ Ahvenainen, 2003 2007). یکی دیگر از ویژگی‌هایی که استفاده از پروتئین آب‌پنیر را در صنایع غذایی توجیه می‌کند، دسترسی راحت و ارزان بودن این محصول است.

اگرچه قابلیت مقاومت پوشش‌های پروتئین آب‌پنیر در برابر رطوبت به دلیل ماهیت آب‌دوستی آن‌ها کم است، اما موانع مناسبی در برابر عبور گازهایی مانند اکسیژن، دی‌اکسید کربن، ترکیبات معطر و فرار و همچنین چربی‌ها هستند (Seydim & Sarikus, 2007). از این‌رو این فیلم‌ها توانایی افزایش زمان ماندگاری فرآورده‌های غذایی را دارند (Ozdemir & Floros, 2008). از آنجا که فیلم پروتئین آب‌پنیر مقاومت مکانیکی بالایی دارد، پوشش مواد غذایی با این فیلم، فرم ظاهری و خواص مکانیکی فرآورده را بهبود می‌دهد (Seydim & Sarikus, 2007).

به دلیل اینکه خاصیت نگهدارندگی پوشش پروتئین آب‌پنیر صرفا به ممانعت از عبور رطوبت، لیپیدها، گازهای مختلف، مواد معطر و فرار

(* ایمیل نویسنده مسئول: skyeganeh@gmail.com)
DOI:10.22067/IFSTRJ.2021.67977.1003

۱- دانشجوی دکتری، گروه آموزشی فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.
۲- استاد، گروه آموزشی شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

بر می‌گردد، استفاده از ترکیبات فعال در این نوع پوشش با هدف کاهش نرخ اکسایش ماده غذایی، بر کارایی و قدرت نگهدارندگی این پوشش‌ها می‌افزاید. با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مختلف می‌توان پوشش پروتئین آب‌پنیر را غنی کرد. اما به دلیل ماهیت طبیعی این پروتئین‌ها و همچنین حفظ سلامت مصرف‌کننده و کاهش نگرانی آن‌ها به جهت مضرات نگهدارنده‌های شیمیایی، بهتر است از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی استفاده شود.

میگو به دلیل دارابودن اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه طی نگهداری در دمای یخچال به شدت در معرض فساد اکسیداتیو قرار دارد. این آبزی در حالت انجماد نیز به همین دلیل (البته با شدت کمتر) به اکسیداسیون حساس است (Pazos *et al.*, 2005)؛ ضمن اینکه به‌طور کلی نگهداری محصولات و فرآورده‌های شیلاتی در حالت انجماد منجر به افت خصوصیات کیفی مانند کاهش وزن، آبچک، تغییر ماهیت پروتئین، رنگ و طعم می‌شود (Bhobe & Pai, 1986؛ Boonsumrej *et al.*, 2007؛ Gonçalves, & Ribeiro, 2008؛ Hui *et al.*, 2004). بنابراین استفاده از تکنیکی که بتواند هم در شرایط انجماد و هم شرایط یخچالی سرعت اکسیداسیون اسیدهای چرب میگو را کاهش و متعاقبا به افزایش ماندگاری، حفظ ارزش غذایی و کیفیت محصول کمک کند، ضروری به‌نظر می‌رسد. یکی از این تکنیک‌ها استفاده از فیلم‌های خوراکی بر پایه پروتئین آب پنیر است. با توجه به اینکه حساسیت میگو به اکسیداسیون زیاد است، استفاده از پوشش پروتئین آب‌پنیر خالص برای افزایش ماندگاری آن در شرایط سرد (یخچالی) کافی نیست و این پوشش نمی‌تواند اثر زیادی بر کنترل شدت اکسایش داشته باشد (Farshidi et al., 2017). به همین دلیل لازم است پوشش پروتئین آب‌پنیر با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی غنی شود تا کارایی این پوشش جهت نگهداری میگو افزایش یابد. اما انتخاب نوع آنتی‌اکسیدان به‌واسطه قدرت عمل و اثرگذاری در شرایط ترکیبی با پروتئین آب‌پنیر بسیار مهم است. چرا که آنتی‌اکسیدان‌ها از نظر قدرت و عملکرد (به‌خصوص در ترکیب با یک ماکرومولکول دیگر مانند پروتئین) می‌توانند متفاوت باشند. آسکوربیک‌اسید (ویتامین C) و آلفاتوکوفرول (ویتامین E) دو آنتی‌اکسیدان طبیعی هستند که علاوه بر خواص نگهدارندگی (آنتی‌اکسیدانی) دارای ارزش غذایی و اثرات سودمندی بر سلامت هستند (Han *et al.*, 2004). در مطالعات مختلفی استفاده از آسکوربیک اسید (Abdel, 2001؛ Aubourg *et al.*, 2004 ؛ Pourashouri *et al.*, 2009) و از آلفاتوکوفرول (Zuta *et al.*, 2007؛ Georgantelis *et al.*, 2007) جهت افزایش پایداری اکسایشی فرآورده‌های گوشتی و پروتئینی مورد بررسی قرار گرفته و نتایج مثبتی گزارش گردیده است.

تحقیقات متعددی در زمینه پوشش مواد غذایی به‌وسیله پروتئین آب‌پنیر و ترکیبات فعال صورت گرفته است. Khezri و همکاران (۲۰۱۲) اثر پوشش پروتئین آب‌پنیر غنی‌شده با آسکوربیک اسید را بر نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی و گزارش کردند که استفاده از این پوشش طی مدت نگهداری فیله در دمای یخچال نرخ افزایش pH، بازهای ازته فرار، بار باکتریایی کل و سرمادوست را نسبت به شاهد کاهش داد. نتایج مطالعه Sayyad و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که پوشش فیله ماهی کپور نقره‌ای[1] با پروتئین آب‌پنیر حاوی اسانس شوید موجب کنترل روند افزایشی شاخص‌های اکسایشی و میکروبی تیمار نسبت به شاهد می‌شود. طی تحقیقی مشخص شد پوشش پروتئین آب‌پنیر- گلیسرول قادر به افزایش پایداری اکسایشی مغز گردو است (Hoseini & Milani, 2016). در مطالعه Mottalebi و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شد که پوشش خوراکی ماهی کیلکا با پروتئین آب‌پنیر طی مدت نگهداری در سردخانه منجر به بهبود کیفیت رطوبت و رنگ می‌شود. Sayyad و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند پوشش فیش فینگر کپور نقره‌ای با پروتئین آب‌پنیر و مونوگلیسرید می‌تواند منجر به کاهش اکسیداسیون و متعاقبا افزایش زمان نگهداری فرآورده شود. در پژوهشی دیگر، پوشش پروتئین آب‌پنیر- عصاره سیاه‌دانه توانست ماندگاری ماهی سوف را در شرایط یخچالی افزایش دهد.

با توجه به مطالعات انجام‌شده و ضرورت نیاز به ماندگاری بیشتر میگو در زمان نگهداری سرد (یخچال)، هدف از مطالعه حاضر امکان‌سنجی کنترل نرخ اکسایش میگو با استفاده از پوشش پروتئین آب‌پنیر غنی‌شده با آنتی‌اکسیدان‌های آسکوربیک اسید و آلفاتوکوفرول در دمای یخچال (۱±۴ درجه سانتی‌گراد) و همچنین مقایسه کارایی این دو آنتی‌اکسیدان (در ترکیب با پروتئین با آب‌پنیر) است.

مواد و روش‌ها

میگوهای وانامی[2] با وزن تقریبی ۱۸ گرم از سایت گمیشان واقع در استان گلستان صید و در ظروف حاوی یخ پس از گذشت ۳ ساعت به آزمایشگاه (پایلوت فرآوری محصولات شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری) منتقل و پس از سرزنی، پوست‌گیری و شستشو در شرایط مناسب (انجماد) ذخیره شدند. به‌منظور تهیه پوشش پروتئینی بر پایه آب پنیر از کنسانتره آب پنیر ۸۰ درصد (سیمین فرآور)، آسکوربیک‌اسید (مرک) و آلفاتوکوفرول (سیگما) استفاده شد.

تهیه تیمارها، ایجاد پوشش و آزمون‌ها

محلول ۱۰ درصد وزنی- حجمی پروتئین آب‌پنیر در آب مقطر تهیه و به‌طور کامل هموژن شد. گلیسرول با نسبت ۱:۱ (برابر با مقدار پودر پروتئینی) به عنوان پلاستی‌سایزر به محلول اضافه و سپس محلول

1 . *Hypophthalmichthys molitrix*

2 . *Litopenaeus vannamei*

حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از اینکه این محلول سرد شد، آنتی‌اکسیدان‌های مورد نظر (آسکوربیک اسید و آلفاتوکوفرول به مقدار ۲ درصد وزنی/ حجمی) به آن اضافه و این ترکیب به مدت یک ساعت هموژن شد (Khezri et al., 2012؛ Min & Krochta, 2007). به‌منظور ایجاد پوشش از روش غوطه‌وری استفاده گردید. به این صورت که تیمارها دو بار با فاصله ۵ دقیقه و به مدت دو دقیقه در محلول‌های تهیه‌شده قرار گرفتند. پس از غوطه‌وری بار دوم، به نمونه‌ها اجازه داده شد تا در دمای اتاق خشک شوند. سپس میگوها به یخچال با دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۹ روز ذخیره شدند. به‌منظور بررسی خصوصیات کیفی نمونه‌ها و شدت فرآیند اکسایش چربی، شاخص‌های پراکسید، اسیدهای چرب آزاد، اندیس آنیسیدین و تیوباربیتوریک‌اسید برای تیمارها در فواصل روزهای صفر، ۳، ۶ و ۹ اندازه‌گیری شد. همچنین به‌منظور بررسی تغییرات محتوای اسیدهای چرب بافت میگو در طول نگهداری، پروفیل اسیدهای چرب میگوی تازه و تیمارها بعد از ۹ روز ارزیابی و با یکدیگر مقایسه شدند. جدول ۱ ترکیب تیمارها را نشان می‌دهد.

جدول ۱- تیمارهای تحقیق

Table 1- Research treatments

Treatments تیمارها	Composition ترکیب تیمارها
1	Control (Shrimp texture) شاهد (بافت میگو)
2	Shrimp texture + whey protein بافت میگو+ پروتئین آب پنیر
3	Shrimp texture + whey protein + ascorbic acid بافت میگو+ پروتئین آب پنیر+ آسکوربیک‌اسید
4	Shrimp texture + whey protein + alpha-tocopherol بافت میگو+ پروتئین آب پنیر+ آلفاتوکوفرول

استخراج چربی

به‌منظور استخراج چربی موجود در بافت، ابتدا میگوها توسط مولینکس چرخ و حلالی متشکل از کلروفرم- متانول و آب با نسبت ۱:۱:۲ به خمیر حاصل اضافه شد. پس از هموژن‌کردن این ترکیب، لایه کلروفرمی جدا و روغن موجود در حلال با تبخیرکننده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (تحت شرایط خلا) تبخیر و جداسازی شد (Bligh & Dyer, 1959).

عدد پراکسید

به‌منظور اندازه‌گیری عدد پراکسید، ۶۰ سی‌سی کلروفرم و ۶۰ سی‌سی متانول به دکانتور حاوی ۱۵ گرم بافت میگو اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت با افزودن ۳۶ سی‌سی آب مقطر به دکانتور اجازه داده شد تا سه فاز تشکیل شود. ۲۰ میلی‌لیتر از فاز زیرین به یک ارلن منتقل و با ۲۵ سی‌سی کلروفرم و استیک اسید (با نسبت ۳ به ۲) ترکیب شد. در مرحله بعد ۰/۵ سی‌سی یدور پتاسیم و ۳۰ سی‌سی آب مقطر به ترکیب حاصل اضافه گردید. سپس ۰/۵ سی‌سی معرف نشاسته ۱٪ وارد ارلن و درب آن بسته شد. بعد از تکان‌دادن ارلن، ید آزادشده رنگ محلول را تغییر داد. در انتها محلول حاصل با تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تیتر و عدد پراکسید از رابطه ۱ بر حسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم چربی محاسبه شد. در این فرمول زیر V حجم تیوسولفات مصرفی، N نرمالیته و M وزن نمونه بر حسب کیلوگرم است (Egan & Sawyer, 1997).

$$PV=100\times V\times N/M \quad (۱)$$

اسیدهای چرب آزاد

۲ تا ۳ قطره معرف فنل‌فتالئین به یک ارلن حاوی ۲۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ اضافه شد. این محلول با افزودن ۱ تا ۲ قطره هیدروکسید سدیم، خنثی و رنگ آن به رنگ پوست پیاز تغییر کرد. محلول حاصل به ارلن حاوی چربی اضافه و روی هیتر قرار گرفت. پس از اولین جوش، محلول از هیتر جدا و ۲ تا ۳ قطره فنل‌فتالئین به آن افزوده و سپس با سود تیتر شد. در نهایت اسیدهای چرب آزاد از طریق رابطه ۲ محاسبه و بر حسب درصد اولئیک‌اسید گزارش شد (Egan & Sawyer, 1997).

$$FFA=2.82\ N\ (V_2-V_1)/W \quad (۲)$$

در این رابطه N، نرمالیته سود، V_2، میلی‌لیتر سود مصرفی برای هر نمونه، V_1، میلی‌لیتر سود مصرفی برای هر نمونه شاهد و W، گرم چربی است.

اندیس آنیسیدین

جهت سنجش عدد آنیسیدین چربی تیمارها، در ابتدا ۲ گرم چربی در ۲۵ سی‌سی ایزواکتان حل و جذب این محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis، CE 7200) در طول موج ۳۵۰ نانومتر قرائت شد. در مرحله بعد، ۵ میلی‌لیتر از این مخلوط با ۱ میلی‌لیتر آنیسیدین ۲۵ درصد در اسید استیک مخلوط شد. بعد از گذشت زمان ده دقیقه،

جذب این محلول نیز در همان طول موج ثبت شد. در انتها عدد آنیسیدین با استفاده از فرمول ۳ محاسبه و گزارش گردید. در این فرمول A_s جذب محلول چربی بعد از واکنش با آنیسیدین، A_b جذب محلول چربی و M گرم چربی است (Parvaneh, 2019).

$$AnV=25(1.2\ A_s - A_b)/M \quad (۳)$$

شاخص تیوباربیتوریک اسید

به‌منظور اندازه‌گیری شاخص تیوباربیتوریک اسید در ابتدا دستگاه تقطیر با مخلوط کردن ۱۰ گرم بافت هموژن‌شده، ۹۷/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک (۴ نرمال) در یک ارلن تشکیل شد. در مرحله بعد ۴ میلی‌لیتر معرف TBA به ۵ میلی‌لیتر از مایع حاصل از تقطیر اضافه شد و ظرف حاوی این ترکیب ۳۵ دقیقه در حمام آب (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. پس از سرد شدن میزان جذب مایع صورتی حاصل در طول موج ۵۳۸ نانومتر قرائت گردید. شاخص تیوباربیتوریک‌اسید از حاصل ضرب عدد جذب در ثابت ۷/۸ محاسبه و به صورت میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در کیلوگرم نمونه گزارش شد (Tarladgis *et al.*, 1960).

بررسی پروفیل اسیدهای چرب

به‌منظور بررسی پروفیل اسیدهای چرب روغن میگو، ۰/۵ گرم چربی استخراج‌شده با نسبت‌های مشخص از متانول، بنزن و اسیدسولفوریک ترکیب و در نهایت متیله شد. یک میکرولیتر از نمونه آماده‌شده به دستگاه کروماتوگراف گازی (Hewlett-Packard، ۶۸۹۰ با ستون BPX و دمای ۱۹۸ درجه سانتی‌گراد و ردیاب دتکتور شعله‌ای با دمای ۳۲۰ درجه سانتی‌گراد) تزریق شد. کلیات مقادیر اسیدهای چرب به صورت گرم در ۱۰۰ گرم چربی ارائه شد (Murphy, 1993).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تحقیق حاضر در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا و به‌منظور آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS استفاده گردید. داده‌ها از طریق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه آنالیز و معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌ها به‌وسیله آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ارزیابی شد.

نتایج و بحث

عدد پراکسید

عدد پراکسید شاخصی است که میزان محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها یا همان هیدروپراکسیدها را می‌سنجد. از آنجا که هیدروپراکسیدها ممکن است به ترکیبات ثانویه فرار و غیرفرار تبدیل و متعاقبا کیفیت فرآورده را دستخوش تغییرات منفی کنند (تندشدن اکسیداسیونی)، اندازه‌گیری آن‌ها حائز اهمیت است. اعداد مختلفی برای میزان استاندارد این شاخص عنوان شده است که از یک (Naturland, 2002) و دو (Kanner, 2007) تا پنج میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم چربی (UNECEF, 2002) متغیر است.

جدول ۲ عدد پراکسید تیمارها را در طول دوره نگهداری نشان می‌دهد. مطابق جدول، در روز صفر همه تیمارها تقریبا عدد پراکسید برابری ارائه کردند (p>۰/۰۵). در روز سوم نگهداری، کمترین و بیشترین عدد پراکسید به‌ترتیب مربوط به تیمار ۳ و ۱ بود (p<۰/۰۵). ضمن اینکه در این روز عدد پراکسید تیمارهای ۲ و ۴ اختلاف معنی‌داری نداشتند (p>۰/۰۵). در روزهای ششم و نهم اعداد پراکسید همه تیمارها متفاوت و کمترین مقدار آن در تیمار ۳ ثبت شد (p<۰/۰۵). در هر کدام از تیمارها با افزایش زمان نگهداری، روند عدد پراکسید صعودی بود. گرچه اختلاف عدد پراکسید در تیمار ۳ بین روزهای سوم و ششم معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵).

جدول ۲- عدد پراکسید تیمارها در طول دوره نگهداری (میلی‌گرم اکسیژن در کیلوگرم)

Table 2- Peroxide value of treatments during storage (mg O_2/Kg)

Storage time (day) زمان نگهداری (روز)	Treatment 1 (Control) تیمار ۱ (شاهد)	Treatment 2 تیمار ۲	Treatment 3 تیمار ۳	Treatment 4 تیمار ٤
0	1.85±0.11^{Aa}	1.81±0.45^{Aa}	1.79±0.07^{Aa}	1.79±0.1^{Aa}
3	4.68±0.12^{Bc}	3.12±0.42^{Bb}	2.21±0.01^{Ba}	3.06±0.05^{Bb}
6	7.51±0.68^{Cd}	6.01±0.12^{Cc}	2.24±0.42^{Ba}	4.57±0.14^{Cb}
9	14.35±1.29^{Dd}	9.32±0.15^{Dc}	3.91±0.09^{Ca}	6.85±0.08^{Db}

حروف کوچک و بزرگ متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین داده‌های هر سطر و ستون است (p<۰/۰۵).

The lowercase and uppercase letters indicate a significant difference between the data in each row and column, respectively (p<0.05).

در تحقیق حاضر پوشش پروتئین آب‌پنیر خالص نسبت به شاهد توانست روند افزایشی عدد پراکسید را کنترل کند. به گونه‌ای که در تیمار شاهد عدد پراکسید از ۰/۱۱± ۱/۸۵ در روز صفر به ۱/۲۹± ۱۴/۳۵ میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم لیپید در روز نهم رسید، اما دامنه این تغییر در تیمار پوشش‌داده‌شده با پروتئین آب پنیر از ۰/۴۵± ۱/۸۱ تا ۰/۱۵± ۹/۳۲ میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم لیپید بود. این به این معناست که پوشش پروتئین آب‌پنیر خالص تا حدی می‌تواند نرخ اکسیداسیون و تولید محصولات اولیه آن را کاهش دهد، اما از آنجا که

میگو بسیار مستعد فساد است، در این تحقیق به پوشش خالص پروتئین آب‌پنیر بسنده نشد و این پوشش با آسکوربیک اسید و آلفاتوکوفرول غنی شد. نتایج نشان داد که افزودن این دو آنتی‌اکسیدان به پوشش پروتئین آب‌پنیر به‌صورت معنی‌داری به کارایی این پوشش در مقابله با تولید محصولات اولیه اکسیداسیون کمک می‌کند (p<۰/۰۵). به‌طور کلی طی روزهای نگهداری عدد پراکسید تیمار ۳ به‌صورت معنی‌داری کمتر از تیمار ۴ بود. این موضوع نشان می‌دهد که آسکوربیک اسید نسبت به آلفاتوکوفرول در ترکیب با پروتئین آب‌پنیر به صورت معنی‌داری قابلیت بیشتری برای کاهش و کنترل نرخ اکسیداسیون دارد. این ترکیب جهت کنترل اکسایش آنقدر کاراست که مقادیر عدد پراکسید در تیمار مربوطه در روزهای سوم و ششم تقریبا برابر است. به این معنی که این پوشش موجب شد تا با گذشت سه روز تغییر معنی‌داری در عدد پراکسید تیمار ۳ ثبت نشود. شیب عدد پراکسید در همه تیمارها با گذشت زمان نگهداری صعودی، اما میزان این شیب در تیمارها متفاوت بود. در واقع استفاده از پوشش‌ها موجب شد تا شیب افزایش عدد پراکسید در تیمارهای دارای پوشش نسبت به شاهد کمتر باشد. اگر در خوشبینانه‌ترین حالت حداکثر میزان استاندارد عدد پراکسید را ۵ میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم چربی در نظر بگیریم، بعد از گذشت ۹ روز تنها تیمار ۳ قابلیت مصرف دارد. با این حد استاندارد، تیمار شاهد و ۲ تا روز سوم برای مصرف انسانی مناسب بودند. اما استفاده از پوشش پروتئین آب پنیر و آلفاتوکوفرول این زمان را تا روز ششم ارتقا داد (تیمار ۴).

در مطالعه Paktermani و همکاران (۲۰۱۷) از آلفاتوکوفرول در ترکیب با آلژینات‌سدیم به‌منظور حفظ خصوصیات کیفی گوشت ماهی استفاده شد و نتایج نشان داد استفاده از این آنتی‌اکسیدان موجب کاهش نرخ تولید پراکسید در مقایسه با شاهد می‌شود. استفاده از پروتئین آب‌پنیر حاوی اسانس شوید در نگهداری فیله کپور نقره‌ای تا حد زیادی توانست روند افزایشی پراکسید و به‌طور کلی شاخص‌های اکسایش را نسبت به شاهد کنترل کند (Sayyad et al., 2016). عدد پراکسید در چربی ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان با پوشش کیتوزان و آلفاتوکوفرول طی نگهداری در دمای یخچال بسیار کمتر از تیمار شاهد بود (طلوعی و همکاران، ۱۳۹۱). در تحقیق Zuta و همکاران (۲۰۰۷) گزارش شد محصولات اولیه اکسایش در روغن ماهی ماکرل در حضور غلظت پائین آلفاتوکوفرول کاهش می‌یابد.

اسیدهای چرب آزاد

اسیدهای چرب آزاد که تولید آن‌ها به‌عنوان پیشرفت اکسیداسیون مطرح است، حاصل آبکافت آنزیمی تری‌گلیسریدها در حضور کاتالیزورهایی نظیر گرما و رطوبت هستند. این اسیدها طی اتواکسیداسیون ترکیباتی را تولید می‌کنند که ویژگی‌های حسی (طعم، بو، مزه و آروما) و کیفی فرآورده (زمان ماندگاری) را تحت تاثیر قرار می‌دهند. جدول ۳ میزان اسیدهای چرب آزاد را در تیمارها نشان می‌دهد. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود، در روز صفر اختلاف شاخص مذکور بین تیمارها معنی‌دار نیست (p>۰/۰۵). در روزهای سوم، ششم و نهم کمترین میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمار ۳ ثبت شد (p<۰/۰۵). در روز سوم میزان اسیدهای چرب آزاد در شاهد و تیمار ۲ اختلاف قابل ملاحظه‌ای نداشت(p>۰/۰۵). تولید اسیدهای چرب آزاد در همه تیمارها با افزایش زمان نگهداری به صورت معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵) اما شیب این روند در تیمارها متفاوت و کمترین شیب مربوط به تیمار ۳ بود.

جدول ۳- میزان اسیدهای چرب آزاد تیمارها در طول دوره نگهداری (درصد اولئیک اسید)

Table 3- Amount of free fatty acids in the treatments during storage (%Oleic acid)

Storage time (day) زمان نگهداری (روز)	Treatment 1 (Control) تیمار ۱ (شاهد)	Treatment 2 تیمار ۲	Treatment 3 تیمار ۳	Treatment 4 تیمار ٤
0	0.25 ± 0.1^{Aa}	0.26 ± 0.05^{Aa}	0.24 ± 0.02^{Aa}	0.25 ± 0.09^{Aa}
3	1.81 ± 0.11^{Bc}	1.75 ± 0.1^{Bc}	0.77 ± 0.01^{Ba}	1.04 ± 0.05^{Bb}
6	2.93 ± 0.08^{Cd}	2.11 ± 0.02^{Cc}	1.16 ± 0.04^{Ca}	1.62 ± 0.01^{Cb}
9	4.75 ± 0.24^{Dd}	3.62 ± 0.15^{Dc}	1.98 ± 0.01^{Da}	2.73 ± 0.04^{Db}

حروف کوچک و بزرگ متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین داده‌های هر سطر و ستون است (p<۰/۰۵).

The lowercase and uppercase letters indicate a significant difference between the data in each row and column, respectively (p<0.05)

در این پژوهش شاخص اسیدهای چرب آزاد در تیمار شاهد با شیب زیادی در طول دوره نگهداری افزایش یافت و از ۰/۱± ۰/۲۵ در روز صفر به ۰/۲۴± ۴/۷۵ درصد اولئیک‌اسید در روز نهم رسید. استفاده از پوشش پروتئین آب پنیر خالص (تیمار ۲) اگرچه تا روز سوم نسبت به شاهد کارائی نداشت (عدم وجود اختلاف معنی‌دار در روز صفر و سوم از نظر شاخص مذکور) اما در روزهای ششم و نهم قابلیت خود را نشان داد و به صورت معنی‌داری مقادیر کمتری از اسیدهای چرب آزاد را نسبت به شاهد نشان داد (p<۰/۰۵). غنی‌سازی پروتئین آب‌پنیر با آسکوربیک‌اسید (تیمار ۳) و آلفاتوکوفرول (تیمار ۴) موجب شد تا پوشش حاصل نسبت به شاهد و تیمار ۲ به صورت شدیدتری در مقابل

اکسیداسیون چربی‌های بافت مقاومت کند. به‌طور کلی در همه روزهای نگهداری به غیر از روز صفر، تیمار ۳ نسبت به تیمار ۴، به شکل معنی‌داری قابلیت بیشتری از خود در برابر اکسیداسیون نشان داد و کمترین مقادیر اسیدهای چرب آزاد مربوط به همین تیمار بود. این امر بدان معناست که بین دو آنتی‌اکسیدان طبیعی آسکوربیک اسید و آلفاتوکوفرول، آسکوربیک اسید کارایی بیشتری برای افزایش پایداری بافت میگو (در ترکیب با پروتئین آب‌پنیر) دارد. اینکه کمترین شیب افزایشی تولید اسیدهای چرب آزاد در بین تیمارها باز هم مربوط به تیمار ۳ است، دقیقا به همین موضوع اشاره دارد. با توجه به اینکه حداکثر میزان مجاز اسیدهای چرب آزاد برای مصارف انسانی ۵ درصد اولئیک اسید گزارش شده است (Kirk & Sawyer, 1991) می‌توان ادعا کرد که همه تیمارها تا پایان دوره نگهداری از نظر میزان اسیدهای چرب آزاد در حد استاندارد قرار دارند؛ گرچه تیمار شاهد در روز انتهایی (نهم) به مرز قابل قبول این شاخص نزدیک شد.

نتایج پژوهشی که به‌منظور افزایش پایداری اکسایشی مغز گردو از پوشش پروتئین آب‌پنیر استفاده کرد، مانند پژوهش حاضر نشان داد این پوشش توانایی بالقوه‌ای در کاهش نرخ تولید اسیدهای چرب آزاد در مغز گردو دارد (Hoseini & Milani, 2016).

همچنین در تحقیق Seyfzadeh و Mottalebi (۲۰۱۱) که از پوشش ترکیبی پروتئین آب پنیر و آلژینات سدیم جهت حفظ خصوصیات کیفی ماهی کیلکا[1] در شرایط انجماد استفاده شد، این پوشش توانست روند افزایش اسیدهای چرب آزاد را در طول دوره نگهداری نسبت به شاهد کنترل کند. در تحقیق Toluei و همکاران (۲۰۱۱) استفاده از آلفاتوکوفرول در ترکیب با کیتوزان تا حد زیادی روند تولید اسیدهای چرب را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (دمای یخچال) نسبت به شاهد کنترل کرد.

شاخص آنیسیدین

آنیسیدین اندیسی جهت ارزیابی محصولات ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب است و در واقع معیاری از مقدار آلدهیدهایی (۲ آلکنال‌ها و ۲و۴ آلکادی‌ان‌ها) می‌باشد که در اثر شکستن محصولات اولیه اکسایش (هیدروپراکسیدها) تولید می‌شوند (Shahin et al., 2014). اگر عدد آنیسیدین چربی میگوی پوشش‌دهی شده با گذشت زمان نسبت به شاهد کمتر باشد، این امر بیانگر موثربودن پوشش‌ها در ممانعت از اکسیداسیون چربی بافت است.

جدول ۴ شاخص آنیسیدین نمونه‌های دارای پوشش و شاهد را نشان می‌دهد. مطابق جدول در روز صفر شاخص مذکور در تیمارها با هم برابر است (p>۰/۰۵)، در روز سوم مقادیر شاخص آنیسیدین در تیمارهای ۲ و ۴ اختلاف قابل ملاحظه‌ای ارائه نکردند (p>۰/۰۵)؛ ضمن اینکه کمترین این شاخص در تیمار ۳ ثبت شد (p<۰/۰۵). در روزهای ششم و نهم هر چهار تیمار از نظر شاخص آنیسیدین اختلاف معنی‌داری داشتند که حداقل این شاخص باز هم مربوط به تیمار ۳ بود (p<۰/۰۵). در همه تیمارها با افزایش دوره نگهداری، روند شاخص آنیسیدین به صورت معنی‌داری افزایشی بود (p<۰/۰۵).

جدول ٤- عدد آنیسیدین تیمارها در طول دوره نگهداری

Table 4- Anisidine value of treatments during storage

Storage time (day) زمان نگهداری (روز)	Treatment 1 (Control) تیمار ۱ (شاهد)	Treatment 2 تیمار ۲	Treatment 3 تیمار ۳	Treatment 4 تیمار ٤
0	1.06±0.06^{Aa}	1.04±0.02^{Aa}	1.04±0.01^{Aa}	1.05±0.05^{Aa}
3	4.02±0.03^{Bc}	2.81±0.09^{Bb}	1.72±0.01^{Ba}	2.78±0.1^{Bb}
6	7.81±0.43^{Cd}	5.99±0.05^{Cc}	3.14±0.05^{Ca}	4.89±0.02^{Cb}
9	12.87±0.11^{Dd}	9.52±0.19^{Dc}	4.22±0.09^{Da}	6.23±0.46^{Db}

حروف کوچک و بزرگ متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین داده‌های هر سطر و ستون است (p<۰/۰۵).

The lowercase and uppercase letters indicate a significant difference between the data in each row and column, respectively

شاخص آنیسیدین در تیمار دارای پوشش پروتئین آب‌پنیر خالص (تیمار ۲) نسبت به شاهد با شیب آرام‌تری در طول دوره نگهداری افزایش یافت و به‌غیر از روز صفر، مقادیر این شاخص در این تیمار نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر بود (p<۰/۰۵). این موضوع تا حدی نشان‌دهنده کارایی پوشش پروتئین آب پنیر در جلوگیری از ورود گازها به بافت و متعاقب اکسیداسیون چربی است. استفاده از آلفاتوکوفرول در ترکیب با پروتئین آب‌پنیر اگرچه در روزهای صفر و سوم موجب افزایش کارایی پوشش نسبت به پوشش پروتئین آب‌پنیر خالص نشد (عدم وجود اختلاف معنی‌دار از نظر شاخص آنیسیدین)، اما در روزهای ششم و نهم وجود آلفاتوکوفرول در پوشش قابلیت خود را نشان داد و مقادیر کمتری از اندیس آنیسیدین در پوشش پروتئین آب‌پنیر- آلفاتوکوفرول نسبت به پوشش آب‌پنیر خالص ثبت شد (p<۰/۰۵). غنی‌سازی پروتئین آب‌پنیر با آسکوربیک‌اسید موجب شد که این پوشش نسبت به سایر تیمارها، هم مقادیر کم‌تری از اندیس

1 . *Clupeonellia delitula*

آنیسیدین را ارائه کند و هم شیب افزایش این شاخص در این تیمار بسیار کندتر از بقیه تیمارها باشد. به‌گونه‌ای که مقدار شاخص مذکور در این تیمار از ۰/۰۱± ۱/۰۴ در روز صفر به ۰/۰۹± ۴/۲۲ در روز آخر رسید. طی پژوهشی استفاده از آلفاتوکوفرول در ترکیب با کیتوزان جهت افزایش پایداری اکسایشی چربی موجود در قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی نگهداری‌شده در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد این پوشش در کنترل شاخص آنیسیدین موثر است (Toluei et al., 2011).

شاخص تیوباربیتوریک اسید

شاخص تیوباربیتوریک اسید نشان‌دهنده محصولات ثانویه اکسیداسیون چربی‌ها (به‌ویژه آلدهیدها که از شکستن هیدروپراکسیدها تولید می‌شوند) می‌باشد (Lin & Lin, 2005). در بین شاخص‌های مختلفی که جهت سنجش پیشرفت اکسیداسیون چربی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، شاخص تیوباربیتوریک‌اسید شاید از دقت و قابلیت استناد کمتری برخوردار باشد. به دلیل اینکه مالون دی‌آلدهید ایجادشده در اثر اکسیداسیون چربی‌ها قابلیت واکنش با سایر ترکیبات بافت (پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و نوکلوتیدها) را دارد که در این صورت تیوباربیتوریک اسید ممکن است نتواند شاخص دقیقی برای ارزیابی اکسیداسیون ثانویه چربی‌ها باشد (Aubourg, 1993). جدول ۵ شاخص تیوباربیتوریک اسید تیمارها را در طول روزهای ذخیره نشان می‌دهد. همانطور که در جدول مشاهده می‌شود، در روز صفر شاخص تیوباربیتوریک اسید تیمارها تقریبا با هم برابر است (p>۰/۰۵). در روز سوم نیز شاخص مذکور در تیمارهای ۲ و ۴ تقریبا مشابه می‌باشد (p>۰/۰۵) ضمن اینکه در این روز کمترین مقدار شاخص تیوباربیتوریک اسید مربوط به تیمار ۳ بود (p<۰/۰۵). در روزهای ششم و نهم تفاوت بین همه تیمارها از نظر شاخص تیوباربیتوریک اسید معنی‌دار و حداقل این شاخص در تیمار ۳ ثبت شد. در همه تیمارها با افزایش روزهای نگهداری، روند شاخص تیوباربیتوریک اسید صعودی بود؛ گرچه اختلاف این شاخص در تیمار ۳ در روزهای صفر و سوم معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵).

جدول ۵- مقادیر تیوباربیتوریک اسید تیمارها در طول دوره نگهداری (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در کیلوگرم)

Table 5- TBA value of treatments during storage (mgMDA/Kg)

Storage time (day) زمان نگهداری (روز)	Treatment 1 (Control) تیمار ۱ (شاهد)	Treatment 2 تیمار ۲	Treatment 3 تیمار ۳	Treatment 4 تیمار ٤
0	0.39±0.1^{Aa}	0.39±0.06^{Aa}	0.39±0.09^{Aa}	0.37±0.04^{Aa}
3	1.57±0.04^{Bc}	0.99±0.01^{Bb}	0.42±0.1^{Aa}	0.98±0.01^{Bb}
6	2.88±0.05^{Cd}	2.05±0.02^{Cc}	0.89±0.02^{Ba}	1.41±0.02^{Cb}
9	4.11±0.31^{Dd}	3.01±0.03^{Dc}	1.42±0.01^{Ca}	2.16±0.09^{Db}

حروف کوچک و بزرگ متفاوت به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین داده‌های هر سطر و ستون است (p<۰/۰۵).

The lowercase and uppercase letters indicate a significant difference between the data in each row and column, respectively ($p<0.05$).

استفاده از پروتئین آب پنیر خالص برای پوشش میگو تا حد زیادی نسبت به شاهد توانست روند افزایشی تیوباربیتوریک‌اسید را مهار کند. به گونه‌ای که نرخ این شاخص در تیمار شاهد از ۰/۱± ۰/۳۹ در روز صفر به ۰/۳۱± ۴/۱۱ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید بر کیلوگرم در روز نهم رسید، اما این رقم برای تیمار ۲ در همین بازه از ۰/۰۶±۰/۳۹ تا ۰/۰۳±۳/۰۱ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید بر کیلوگرم متغیر بود. در پژوهش Sayyad و همکاران (۲۰۱۶) نیز استفاده از پوشش پروتئین آب پنیر توانسب مانع از افزایش نرخ شاخص تیوباربیتوریک اسید به مانند نمونه شاهد شود. اما بر خلاف پژوهش حاضر، در تحقیق Farshidi و همکاران (۲۰۱۷) پوشش میگو با پروتئین آب‌پنیر خالص اثر قابل توجهی بر کنترل و مهار تیوباربیتوریک اسید تیمار نسبت به شاهد نداشت. در پژوهشی دیگر که ران مرغ با استفاده از پروتئین آب‌پنیر پوشش داده شده بود، گزارش شد این تیمار نسبت به شاهد تفاوت قابل ملاحظه‌ای در میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید ندارد (Wolfson *et al*, 1994). اگرچه قدرت بیشتر پوشش پروتئین آب‌پنیر- آلفاتوکوفرول در برابر پوشش پروتئین آب‌پنیر خالص جهت کنترل تیوباربیتوریک اسید تا روز سوم نمایان نشد، اما در روزهای ششم و نهم به وضوح این مورد تائید شد. در تحقیق Paktermani و همکاران (۲۰۱۷) کارایی آلفاتوکوفرول در کنترل تیوباربیتوریک اسید گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ثابت شد. نتایج شاخص تیوباربیتوریک اسید هم نشان داد که آسکوربیک اسید نسبت به آلفاتوکوفرول در ترکیب با پروتئین آب‌پنیر برای مهار اکسیداسیون چربی‌ها کاراتر است به گونه‌ای که در طول روزهای نگهداری (غیر صفر) همواره شاخص مذکور در تیمار ۳ از تیمار ۴ کمتر بود. پوشش پروتئین آب‌پنیر- آسکوربیک اسید به حدی برای کنترل نرخ شاخص تیوباربیتوریک اسید موثر بود که در تیمار ۳ از روز صفر تا روز سه، افزایش معنی‌داری در این شاخص ثبت نشد. با توجه به اینکه حد قابل قبول شاخص تیوباربیتوریک اسید برای آبزیان در محدوده ۱ تا ۲ میلی‌گرم مالون‌دی-آلدهید در کیلوگرم قرار دارد (Lakshmanan, 2000)، می‌توان ادعا کرد که تیمارهای ۳ و ۴ تا پایان روز نگهداری از نظر کیفیت در حد

مطلوبی قرار دارند. مقدار شاخص تیوباربیتوریک اسید تیمار ۲ در روز ششم از این حد خارج شد و به دلیل ایجاد بوی نامطبوع برای مصارف انسانی مناسب نیست. تیمار شاهد نهایتا تا روز سوم در بازه استاندارد از نظر شاخص تیوباربیتوریک اسید قرار داشت.

ارزیابی پروفیل اسیدچرب تیمارها

در جدول ۶ کلیات پروفیل اسیدهای چرب میگوی تازه و همینطور پروفیل اسیدهای چرب تیمارها در روز نهم ارائه شده است. همانطور که در این جدول رویت می‌شود، کمترین کاهش EPA[1]، DHA[2]، امگا۳[3]، امگا۶[4]، مجموع EPA و DHA و همچنین نسبت DHA به پالمتیک اسید در روز نهم نسبت به میگوی تازه در تیمار ۳ ثبت شد. تیمار ۴، ۲ و شاهد به‌ترتیب در مراتب بعدی جای گرفتند.

بررسی پروفیل اسیدهای چرب در تیمارها نشان داد که پوشش‌های مورد استفاده در این تحقیق و در راس آن‌ها پوشش پروتئین آب‌پنیر– آسکوربیک اسید نقش حفاظتی مناسبی از محتوی اسیدهای چرب بافت میگو و اکسیداسیون آن‌ها دارند. مجموع EPA و DHA و همچنین نسبت DHA به پالمتیک‌اسید دو شاخص مهم پیشرفت اکسایش هستند (Siskos *et al.*, 2007). اختلاف این دو شاخص در چربی میگوی تازه و تیمار ۳ در روز نهم نسبت به این اختلاف در سایر تیمارها بسیار کمتر است که این موضوع نشان‌دهنده کارایی پوشش پروتئین آب‌پنیر– آسکوربیک اسید در حفاظت از اسیدهای چرب در برابر اکسایش می‌باشد. کاهش مقادیر EPA، DHA، امگا ۳ و امگا ۶ در تیمار دارای پوشش پروتئین آب‌پنیر– آسکوربیک اسید در روز نهم نسبت به این مقادیر در میگوی تازه ناچیز است که این موضوع باز هم دلالت بر خاصیت ضداکسایشی و حفاظتی پوشش مذکور دارد. پوشش پروتئین آب‌پنیر– آلفاتوکوفرول و پوشش پروتئین آب‌پنیر خالص نیز از نظر این کارایی نسبت به شاهد بسیار فعال عمل کردند، اما نسبت به پوشش پروتئین آب‌پنیر– آسکوربیک‌اسید به‌ترتیب در رده‌های بعدی جای داشتند. نتایج پروفیل اسیدهای چرب در پژوهشی که به‌منظور حفظ چربی‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی مدت نگهداری در دمای یخچال از پوشش کیتوزان– آلفاتوکوفرول استفاده شد، نشان داد که این پوشش به‌صورت قابل ملاحظه‌ای از کاهش EPA، DHA، امگا ۳، مجموع EPA و DHA و همچنین نسبت DHA به پالمتیک اسید (شاخص‌های پیشرفت اکسایش) جلوگیری می کن (Toluei et al., 2011).

جدول ٦- مقایسه پروفیل اسیدچرب تیمارها در روز نهم و میگوی تازه (گرم در ۱۰۰ گرم چربی)

Table 6- Comparison of fatty acid profiles of treatments in ninth day and fresh shrimp (g/100g lipid)

Fatty acids اسیدهای چرب	Fresh shrimp میگو تازه	Treatment 1 (Control) تیمار ۱ (شاهد)	Treatment 2 تیمار ۲	Treatment 3 تیمار ۳	Treatment 4 تیمار ٤
EPA	11.31±0.03^{e}	2.53±0.06^{a}	5.11±0.01^{b}	8.97±0.07^{d}	6.85±0.08^{c}
DHA	8.56±0.09^{e}	1.14±0.02^{a}	3.91±0.01^{b}	6.16±0.04^{d}	5.33±0.02^{c}
∑ (n-3)[3]	24.63±0.46^{e}	5.54±0.03^{a}	12.63±0.05^{b}	19.38±0.41^{d}	15.96±0.21^{c}
∑ (n-6)[4]	9.15±0.28^{e}	2.25±0.04^{a}	4.19±0.01^{b}	6.41±0.06^{d}	5.27±0.01^{c}
EPA + DHA	19.87±0.02^{e}	3.67±0.16^{a}	9.02±0.04^{b}	15.13±0.23^{d}	12.18±0.15^{c}
DHA/Palmitic	0.59±0.02^{e}	0.12±0.03^{a}	0.24±0.02^{b}	0.46±0.01^{d}	0.35±0.01^{c}

حروف متفاوت در هر ردیف، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین داده‌های آن ردیف است (p<۰/۰۵).

Different letters in each row indicate a significant difference between the data in that row (p<0.05).

نتیجه‌گیری

پوشش میگوی وانامی با استفاده از پروتئین آب‌پنیر می‌تواند تا حدی روند اکسایش چربی‌های بافت را در دمای یخچال نسبت به شاهد کنترل کند. همچنین غنی‌سازی این نوع پوشش با استفاده از آسکوربیک‌اسید و آلفاتوکوفرول به‌صورت معنی‌داری بر قدرت پوشش در مقابله با فساد اکسیداتیو می‌افزاید. مطابق نتایج می‌توان ادعا کرد پوشش پروتئین آب پنیر– آسکوربیک‌اسید نسبت به پوشش پروتئین آب پنیر– آلفاتوکوفرول از کارایی بیشتری برای حفاظت از چربی‌های بافت در برابر اکسایش برخوردار است. بنابراین آسکوربیک‌اسید نسبت به آلفاتوکوفرول (در ترکیب با پروتئین آب پنیر) جهت کنترل نرخ اکسیداسیون میگوی ذخیره شده در دمای یخچال کاراتر است.

منابع

1. Abdel-Aal, H. A. (2001). Using antioxidants for extending the shelf life of frozen Nile karmout (*Claries lazera*) fish mince. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 10(4), 87-99. https://doi.org/10.1300/J030v10n04_08

1 . Eicosapentaenoic acid
2 . Docosahexaenoic acid
3 . Omega 3
4 . Omega 6

2. Ahvenainen, R. (Ed.). (2003). Novel food packaging techniques. Elsevier. CRC Pub. 590pp.
3. Aubourg, S. P. (1993). Interaction of malondialdehyde with biological molecules—new trends about reactivity and significance. *International journal of food science & technology*, 28(4), 323-335. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb01278.x
4. Aubourg, S. P., Pérez- Alonso, F., & Gallardo, J. M. (2004). Studies on rancidity inhibition in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*) by citric and ascorbic acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(4), 232-240. https://doi.org/10.1002/ejlt.200400937
5. Bhobe, A. M., & Pai, J. S. (1986). Study of the properties of frozen shrimps. *Journal of food science and technology*, 23(3), 143-147.
6. Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917.
7. Boonsumrej, S., Chaiwanichsiri, S., Tantratian, S., Suzuki, T., & Takai, R. (2007). Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering*, 80(1), 292-299. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.04.059
8. Egan, H., & Sawyer, R. (1997). Pearson's chemical Analysis of food. 9th. Edition, Edinburgh, Scotland, Churchill. Livingstone, UK, 609-634.
9. Farshidi, M., Ehsani, A., Ebrahimi, B., Bahar Banafshe, M., & Nazari, GH. (2017). Evaluation of whey protein coating efficacy on shrimp fillet quality under cold conditions. *Journal of Food Processing and production*, 7 (3), 37-45
10. Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., & Georgakis, S. A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 C. *Meat science*, 76(1), 172-181. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.026
11. Gonçalves, A. A., & Ribeiro, J. L. D. (2008). Optimization of the freezing process of red shrimp (*Pleoticus muelleri*) previously treated with phosphates. *International Journal of Refrigeration*, 31(7), 1134-1144. https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2008.03.005
12. Gounga, M. E., Xu, S. Y., & Wang, Z. (2007). Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. *Journal of Food Engineering*, *83*(4), 521-530. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.008
13. Han, C., Zhao, Y., Leonard, S. W., & Traber, M. G. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology*, 33(1), 67-78. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.01.008
14. Hoseini, M. & Milani, J. (2016). Increasing oxidative stability of walnut kernel by whey protein isolate coating. *Journal of Food Industry Research*, 27 (3), 91-102
15. Hui, Y. H., Legarretta, I. G., Lim, M. H., Murrell, K. D., & Nip, W. K. (Eds.). (2004). *Handbook of frozen foods* (Vol. 133). CRC Press.
16. Kanner, J. (2007). Dietary advanced lipid oxidation endproducts are risk factors to human health. *Molecular Nutrition and Food research*, 51(9), 1094-1101. https://doi.org/10.1002/mnfr.200600303
17. Khezri, M., Rezaei, M., & Ojagh, M. (2012). The effect of ascorbic acid combined with whey protein coating on the shelf-life of rainbow trout stored at refrigerator temperature: Microbial and chemical analyzes. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 7 (3), 69-78
18. Khosravi, M., Matini, S., & Jalilzadeh, A. (2019). The effect of edible coating based on whey protein containing black seed extract on the shelf life of perch fillet in refrigerated conditions. The 3rd International Congress and the 26th National Congress of Food Science and Technology of Iran, Tehran.
19. Kirk, R.S. & Sawyer, R. (1991). Pearsons chemical analysis of foods. (9th Ed.) Longman Scientific and Technical. Harlow, Essex, UK.
20. Lakshmanan, P. T. (2000). Fish spoilage and quality assessment. In T. S. G. Iyer, M. K. Kandoran, Mary Thomas, & P. T. Mathew (Eds.), *Quality assurance in seafood processing*, pp. 26– 40. Cochin: Society Fisher Techno (India).
21. Lin, C. C., & Lin, C. S. (2005). Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food control*, 16(2), 169-175. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.01.007
22. Mielnik, M. B., Aaby, K., & Skrede, G. (2003). Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. *Meat science*, 65(3), 1147-1155. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00345-5
23. Min, S., & Krochta, J. M. (2007). Ascorbic acid-containing whey protein film coatings for control of oxidation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(8), 2964-2969. https://doi.org/10.1021/jf062698r
24. Mottalebi, A., Hasanzati, A., Khanipour, A., & Soltani, M. (2012). Effect of whey protein edible coating on moisture and sensory characteristics of empty stomach kilka. *Journal of Food Science and Nutrition*, 9 (4), 39-47
25. Murphy, R. C. (1993). Mass spectrometry of lipids. Plenum press. 290 p.
26. Naturland E.V. (2002). Organic farming in the tropics and subtropics exemplary description of 20 crops: cashew nuts. 1 st ed., Germany.

27. Ozdemir, M., & Floros, J. D. (2008). Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties. *Journal of Food Engineering*, 84(1), 116-123. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.09.028
28. Paktermani, M., Ehsani, E., & Ghajarbeygi, P. (2017). Investigating -Increase the shelf life of fish with Edible Alginate sodium-Based Film containing α-tocopherol. *Food Science and Technology*, 61(13), 17-24.
29. P-Anisidine Value. Cd 18-90: AOCS (Official Methods and Recommended Practices of the AOCS).
30. Parvaneh, v. (2019). Quality control and food chemical testing. University of Tehran Press, 335p
31. Pazos, M., Gallardo, J. M., Torres, J. L., & Medina, I. (2005). Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry*, 92(3), 547-557. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.07.036
32. Pourashouri, P., Shabanpour, B., Aubourg, S. P., Rohi, J. D., & Shabani, A. (2009). An investigation of rancidity inhibition during frozen storage of Wels catfish (*Silurus glanis*) fillets by previous ascorbic and citric acid treatment. *International journal of food science & technology*, 44(8), 1503-1509. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01660.x
33. Sayyad, M., Alizadeh, E., & Zakipour, E. (2017). Effect of edible Whey protein-monoglyceride coating on the quality of *Hypophthalmichthys molitrix* fish finger during refrigerated storage. *Journal of Food Science and Technology*, 64 (14), 93-102
34. Sayyad, M., Nourzaei, Kh., & Alizadeh, E. (2016). Effects of edible whey protein coating and essential oil of Anethum graveolens on the quality of *Hypophthalmichthys molitrix* fillet during refrigerated storage. *Scientific - Research Journal*, 5 (2), 85-94
35. Seydim, A. C., & Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*, 39(5), 639-644. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.01.013
36. Seyfzadeh, M. & Mottalebi, A. (2011). The effect of using a combination coating of whey protein and sodium alginate on quality changes of kilka fish during cold storage. *Journal of Aquatics and Fisheries*, 2 (8), 39-51
37. Shahin, R., Nayebzadeh, K., Alizadeh, L., & Mohammadi, A. (2014). Antioxidant effect of tocopherol and TBHQ on oil oxidation over the shelf life of mayonnaise. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 8 (4), 227-236
38. Siskos, I., Zotos, A., Melidou, S., & Tsikritzi, R. (2007). The effect of liquid smoking of fillets of trout (*Salmo gairdnerii*) on sensory, microbiological and chemical changes during chilled storage. *Food Chemistry*, 101(2), 458-464. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.002
39. Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T., & Dugan Jr, L. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 37(1), 44-48. https://doi.org/10.1007/BF02630824
40. Toluie, H., Mohtadi Niya, J., Arefhosseini, S., & Asghari, M. (2012). The effect of chitosan coating that enriched with α-tocopherol on lipid oxidation in farmed trout (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigerated storage. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 1 (3), 153-164
41. UNECEF Standard, (2002). Concerning the marketing and commercial quality control of cashew kernels, Ddp-17, 2002 ed., United Nations, New York And Geneva.
42. Whang, K., Aberle, E. D., Judge, M. D., & Peng, I. C. (1986). Antioxidative activity of α-tocopherol in cooked and uncooked ground pork. *Meat Science*, 17(4), 235-249. https://doi.org/10.1016/0309-1740(86)90043-4
43. Wolfson, L.M., Sumner, S.S. & Froning, G.W. (1994). Inhibition of *Salmonella typhimurium* on poultry by the lactoperoxidase system. *Food Safety*, 14(1), 53-62. https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.1994.tb00583.x
44. Zuta, P. C., Simpson, B. K., Zhao, X., & Leclerc, L. (2007). The effect of α-tocopherol on the oxidation of mackerel oil. *Food Chemistry*, 100(2), 800-807. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.003